

Japanese Unexamined Patent Application

JP-A No. 2001-17155

Laid-Open on: January 23, 2001

[Title of the Invention] MULTI-PURPOSE PLATE

[Abstract]

[Subject]

A plate that can be used for tissue culture and immuno-analysis, which is usable for multiple purposes such as morphology observation, absorption spectrometry, fluorescence-emission spectrometry.

[Means for Solution]

A plate comprising a plate made of a transparent resin with a thickness of 0.5 mm or less and a holder of a transparent resin or a colored resin with a thickness of 1 mm or more, formed into a shape identical with the multi-well plate so as to be capable of holding the plate, in which the holder in continuous close contact with the inner side of the transparent resin plate can be used as a transparent plate or a colored plate by attaching a transparent resin plate.

[Scope of the Claim for Patent]

[Claim 1]

A multi-purpose plate having a plurality of wells for containing specimens, comprising a transparent plate with a thickness of 0.5 mm or less and a holder with a thickness of 1 mm or more, capable of holding the plate.

[Claim 2]

A multi-purpose plate according to claim 1, wherein the holder is in a shape identical with the plate and in continuous close contact to the lower side of the plate.

[Claim 3]

A multi-purpose plate according to claim 1 or 2, wherein the holder is formed of a transparent resin and capable of being used as a transparent plate capable of optical microscopic observation and absorption spectrometry.

[Claim 4]

A multi-purpose plate according to claim 1 or 2, wherein the holder is formed of a colored resin and can be used as a colored plate capable of fluorometry and emission spectrometry.

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Technical Field of the Invention]

The present invention concerns a disposable multi-well plate made of plastics and comprising a plurality of independent wells that are frequently used in the field of biotechnology for cell culture and immuno analysis.

[0002]

[Prior Art]

A vessel as an object of the present invention is generally referred to as a multi-plate and is generally used in the field of cell culture, tissue culture, bacteria culture, immuno analysis by immobilization of protein, DNA, RNA, etc. In the multi-plate, the number of wells per plate is defined, with 6, 12, 24, 48, 96, and 384-well plates being prevalent. Such plates are used in large quantities where large numbers of samples must be handled; for example, in medicine development screening and HTS. In Japan, 96-well plates are predominant.

[0003]

However, in a case of using the 96 well plate, surface treatment or sterilization for cell culture is necessary, and surface treatment for protein immobilization is necessary in the immuno analysis. The surface treatment for cell culture generally includes a plasma treatment, corona treatment, coating of cell adhesion factor, etc. Further, the surface treatment for protein immobilization in immuno analysis, includes introduction of hydroxyl groups by surface oxidation, introduction of carboxyl groups as disclosed in JP-A No. 60-260857, introduction of amino groups as disclosed in JP-A No. 60-15560 and, further, various surface treatments such as non-adhesive treatment by the coating of a hydrophilic gel, used as needed, have been conducted. Further, in addition to those described above, in the case of using fluorometry or emission spectrometry as the detection method, those in which a plate itself is colored white or black so as not to leak light to adjacent wells as disclosed in JP-A No. 3-40818 have been used. In view of the above, manufacturers manufacturing such plates at present apply the treatment for cell culture and the surface treatment for protein immobilization described previously to each plate: transparent plate, white plate, black plate, etc.

[0004]

Further, injection-molded products made of polystyrene are often used usually for such multi-well plates. For example, in a case of preparing an electron microscope sample of culture cells on a multi-well plate, or in a case of radiation-labeled cells or proteins adhered on a multi-well plate in an experiment using a radioisotope, it is necessary to cut out a bottom portion of the well, and the operation efficiency is extremely poor because of the thickness of the plate and the hardness of the resin. Accordingly, cell culture or protein immobilization has been conducted at present by using different substrates depending on requirements, for example resin sheets which are cut and placed in a petri dish or plate, or a nylon membrane sheet or the like covering the culture surface. In the case where the substrate is changed, it is not certain whether the state of the cell culture or immobilized state of protein is really identical on each of the substrates. In the strict sense, even when an identical base resin is used, it may be considered reasonably that when a pigment is incorporated for coloration, the pigment precipitates on the surface making the surface characteristics of the molding product different from those of the starting resin. Accordingly, it cannot be guaranteed whether the state of cells or the immobilized state of proteins is identical on each of the substrates.

[0005]

[Subject to be Solved by the Invention]

An object of the present invention is to provide a plate that can be used for tissue culture and immuno analysis, which is a plate usable for multiple purposes such as morphology observation, absorption spectrometry, and fluorometry and emission spectrometry, etc.

[0006]

[Means for the Solution of the Subject]

The present inventors have made a study of the case where different substrates are required for each measuring means, with a purpose of eliminating the effects of the difference of the state of cells and the immobilized state of proteins, due to difference in the substrates, on the results of measurements and have accomplished the present invention. That is, the present invention provides a multi-well plate having a plurality of wells for containing specimens, comprising a transparent plate with a thickness of 0.5 mm or less and a holder with a thickness of 1 mm or more capable of containing the plate. Further, it provides a multi-purpose plate in which the holder has a shape identical with that of the plate and is in continuous close contact with the lower side of the plate, and which is usable as a transparent plate capable of optical microscopic observation and absorption spectrometry, in a case where the holder is made of a transparent resin and usable as a colored plate capable of fluorometry and emission spectrometry in a case where the holder is made of a colored resin.

[0007]

[Embodiments of the Invention]

The present invention concerns a multi-purpose plate in which a plate is formed of a transparent resin and, further, a holder mating the plate is formed of a transparent or colored resin, and capable of functioning as a single sheet of plate that can cope with various application uses by combining the two members as shown in Fig. 1. Various surface treatments as described previously can be applied to the plate. On the other hand, the holder may be transparent, or colored white, black, etc., so that holders suited to various types of measuring

apparatus can be prepared. Holders include two types, that is, those of a shape identical with the plate and in continuous close contact with the entire lower side of the plate and those of a shape identical with the outer frame of the plate and in continuous close contact only with the outer frame portion to provide strength, and they are selectively used depending on the requirement. The thickness of the plate is limited to 0.5 mm or less; the holes of the holder as shown in Fig. 2 for containing the wells of the plate can be kept separate from each other by reducing the thickness of the plate, without changing the well volume. With such a constitution, in the case of using a holder made of a colored resin, lateral leakage of light such as fluorescence or light emission to adjacent wells can be prevented in the same manner as the conventional plate formed of a colored resin. Further, reduction of the thickness of the plate improves the heat conduction upon warming the plate to provide the effect that the inside of the plate can be heated uniformly.

[0008]

As a method of preparing a thin plate, vacuum forming or pressure forming of a transparent resin sheet is suitable. For example, a transparent plate can be obtained by vacuum forming a sheet such as of a vinyl chloride resin or polyethylene terephthalate. Further, the plate molding method is not restricted only to the method described above but molding is possible also by injection molding using a polystyrene resin. On the other hand, since the holder has to be provided with strength and the thickness has to be 1 mm or more, injection molding or cutting from a resin block is preferred instead of vacuum or pressure forming. Further, the holder is not substantially restricted to resin, and metal or the like may also be used. However, considering the

shape of the plate and continuous close contact therewith, a resin holder of excellent workability is preferred.

[0009]

In the transmission light measuring system such as absorption spectrometry, a plate main body alone can be used satisfactorily but since the plate is reduced in the thickness, it involves a disadvantage of excessive softness of the plate so that the plate is deformed when gripped by the hand, and when the plate is held by a robot arm in an assay system utilizing a robot the grip of the arm cannot be stable. By the combination with a thick holder, the plate can be provided with strength to overcome such problems. Further, the shape of the holder is different depending on the purposes. For example, in a case of culturing cells, since the observation for the morphology in view of the transparency of the plate is an important operation, the holder is not necessarily in continuous close contact with the entire plate but it may suffice that the holder has a shape in which the well bottom portion is opened (Fig. 3(a)) or there only be an outer frame portion for providing the plate with a strength (Fig. 3(b)). Further, in a case of measuring the substance within the well by utilizing fluorescence or light emission, lateral leakage of light which causes the problem during measurement as described also in the part for the prior art can be prevented by covering the entire well with the holder which is molded with a colored resin (Fig. 3(c)).

[0010]

By designing the holder as described above, when a plate subjected to a surface treatment suitable to cells to be cultured or proteins to be immobilized is once selected as the measurement site, absorption spectrometry, fluorometry or

emission spectrometry can be conducted for samples under identical cell culture conditions or immobilized protein conditions. Further, since the plate main body thickness is made 0.5 mm or less, the well bottom can be cut out freely by using ordinary scissors or a knife to enable preparation of electron microscope samples or measurement using radioisotopes. As described above, cell culture or protein immobilization which has conventionally been conducted in different ways for different substrates having the necessary characteristics for respective measuring methods can here be conducted on a vessel made of one substrate which allows absorption spectrometry, emission-spectrometry, fluorometry and, further, measurement by radioisotope, and preparation of electron microscope specimens. Detailed descriptions are to be made with reference to examples.

[0011]

[Example]

(Example 1)

For the plate portion, a molding die was first prepared, and a vinyl chloride sheet of 0.5 mm thickness was vacuum formed to manufacture a 96-well plate 1. An ethylene oxide gas method was used for sterilization. Human hepatoma cell strains and HepG2 cells were cultured in a flask (Sumilon MS-) with Daubecco's modified eagle medium (DMEM) containing 10% fetal bovine serum (FBS) and the cells were peeled and recovered by trypsin-EDTA and recovered just before the cells become confluent on the culturing surface of the flask. The recovered cells were dispersed in 10% FBS-containing DMEM to a concentration of 1×10^4 cells/mL. The prepared liquid cell dispersion was distributed 100 μ L per well (number of cells: 1×10^3 cells/well) of the plate in Examples 1, 2 and cultured in an incubator with 5% concentration of gaseous

carbon dioxide for 24 hours at 37°C. The medium was removed and 100 mL of fresh 10% FBS-containing DMEM was charged, 10 µL of WST-1 reagent (manufactured by Dojin Chemical Co.) for the measurement living cells was added, and the solution was incubated at 37°C for 2 hours. The absorbance of the solution was measured as is by a microplate reader.

[0012]

(Comparative Example 1)

The same procedures as in Example 1 were conducted in a commercially available 96 well plate for use in cell culture (MS-8096F, manufactured by Sumitomo Bakelite).

(Example 2)

The same plate as in Example 1 was prepared, 100 µL of anti-human CRP antibody solution (manufactured by Towns Co.) was charged and transformed into a solid phase by standing still overnight in a refrigerator. After removing the solid phase liquid, it was washed three times with 300 mL/well of a phosphate buffer containing 0.1% Tween 20. Then, 300 µL of a phosphate buffer containing 3% skim milk was charged and left at room temperature for four hours to conduct blocking. After cleaning each well by the same method as described above, 100 µL of antigen-containing human standard serum solution (manufactured by Towns Co.) was charged and left at a room temperature for one hour. After this, it was cleaned. Then, anti-human CRP antibody solution labeled with peroxidase (manufactured by Towns Co.) was added and left at a room temperature for one hour. After leaving, it was cleaned, and then 100 µL of a substrate solution of a peroxidase luminescence kit (ML-1130T, manufactured by Sumitomo Bakelite) was added and the solution

was allowed to react in a dark place for 15 min. After 15 min, 100 μ L of 2N sulfuric acid was added to terminate the reaction, and absorbance was measured by a microplate reader.

[0013]

(Comparative Example 2)

The same procedures as in Example 1 were conducted by using a commercially available 96 well plate for ELISA (MS-8496F, manufactured by Sumitomo Bakelite).

(Example 3)

The same procedures were conducted just before using the peroxidase luminescence kit in Example 2. Instead of the peroxidase luminescence kit, 100 μ L of a solution of chemiluminescence ELISA reagent (No. 1582-950, manufactured by Boeringer Mannheim Co.) was added and, 5 min after, a holder molded from white polystyrene was set to the plate, and the amount of emission was measured by an emission measuring microplate reader.

(Comparative Example 3)

The same procedures as in Example 3 were conducted by using a commercially available white 96-well plate (MS-8496W, manufactured by Sumitomo Bakelite Co.). The result of Examples 1 to 3 and Comparative Examples 1 to 3 are shown in Tables 1 and 2.

[0014]

[Table 1]

	Average absorbance	Variation coefficient
Example 1	1.081	14 %
Comp. Example 1	0.544	19 %
Example 2	1.091	3.1 %
Comp. Example 2	1.126	3.6 %

[0015]

[Table 2]

	Average emission amount	Variation coefficient
Example 3	575598	11.3 %
Comp. Example 3	627497	9.7 %

[0016]

As described above, although a difference is observed between examples and comparative examples, numeral results of examples per se are sufficient for practical use, and this shows that three types of experiments can be conducted with a single kind of plate according to the invention. This means that while three types of plates have had to be prepared conventionally, all such experiments can now be executed with just one kind of plate. Further, since the cells do not adhere or proteins are not adsorbed directly to the holder used in Example 3, it has an advantage that the holder can be used repetitively.

[0017]

[Effect of the Invention]

By the use of the plate and the frame according to the invention, it is no longer necessary to use different plates suited to different measuring methods such as absorption spectrometry, fluorometry, chemiluminescence spectrometry, RI measurement and electron microscopic observation, etc. in the cell culture or the adsorption reaction of proteins and experiments on samples for cell culture or protein adsorption under the identical conditions are possible by one kind of plate.

[Brief Description of the Drawings]

[Fig. 1] is a perspective view showing a multi-purpose plate.

[Fig. 2] is a cross sectional view of a plate.

[Fig. 3] (a) is a cross sectional view of a plate in a state of close contact with a holder in which the bottom of the plate is opened, (b) is a perspective view of a holder in close contact only with the frame portion of the plate and (c) is a cross sectional view in a case where a holder comprising a colored resin is in continuous close contact with the plate.

[Brief Explanation of References]

- 10 plate**
- 11 holder**
- 12 holder, well bottom opening portion**

FIG 1

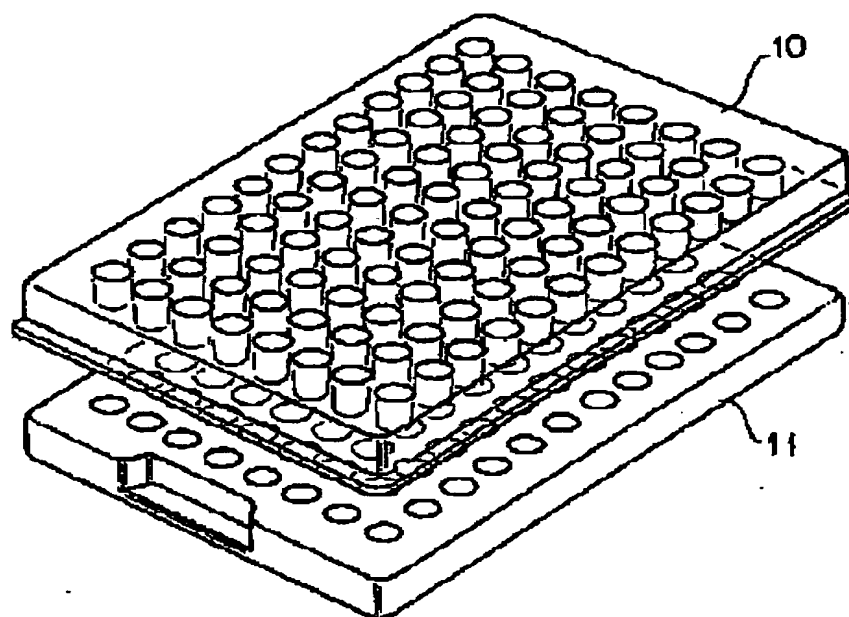


FIG 2

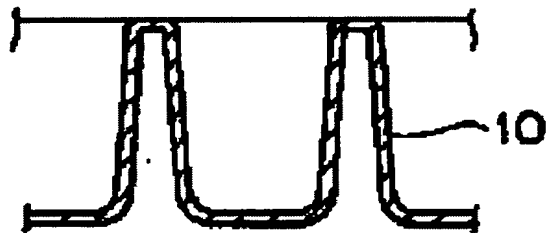
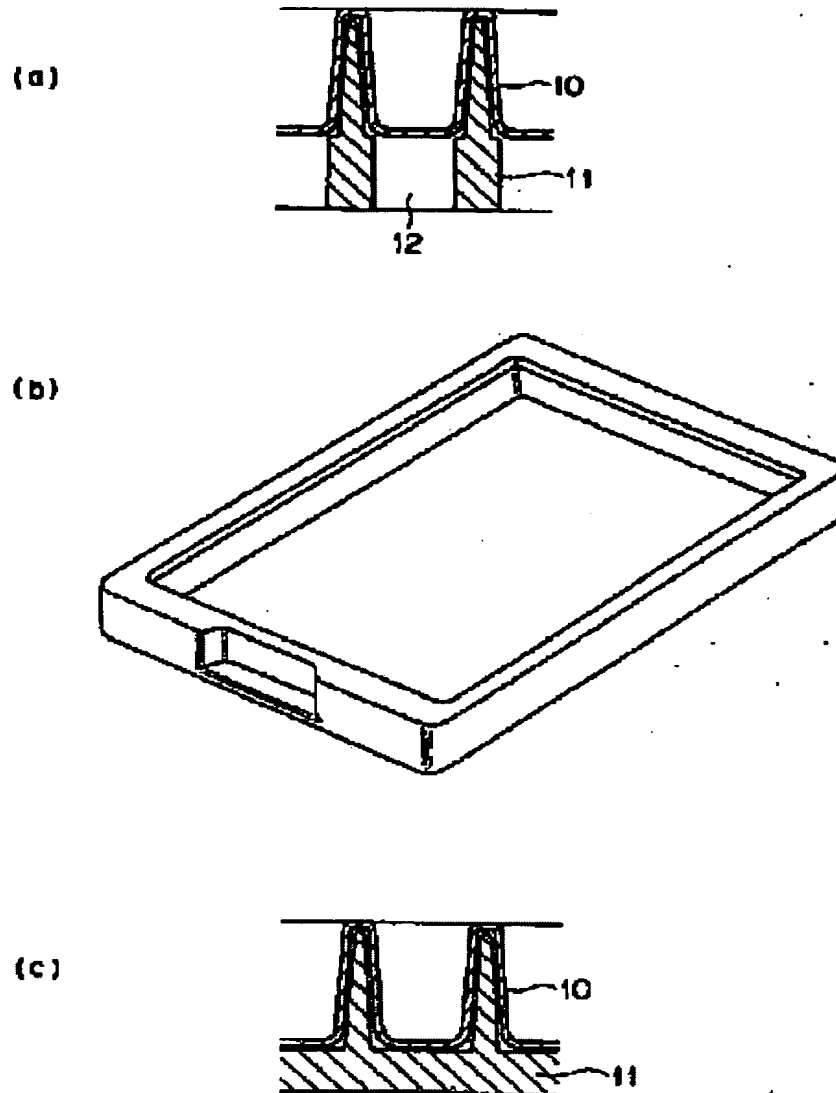


FIG 3



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2001-17155
(P2001-17155A)

(43)公開日 平成13年1月23日(2001.1.23)

(51)Int.Cl.⁷
C 1 2 M 1/32

識別記号

F I
C 1 2 M 1/32

データベース(参考)
4 B 0 2 9

審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 5 頁)

(21)出願番号 特願平11-194329

(22)出願日 平成11年7月8日(1999.7.8)

(71)出願人 000002141

住友ベークライト株式会社
東京都品川区東品川2丁目5番8号

(72)発明者 河村 健司

秋田市土崎港相染町字中島下27-4 秋田
住友ベーク株式会社内

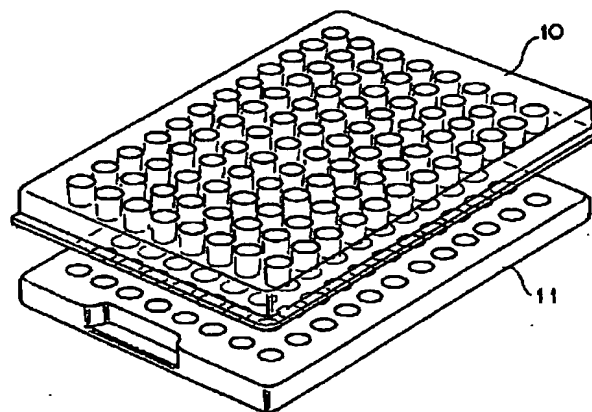
Fターム(参考) 4B029 AA08 BB01 BB15 BB20 CC01
CC02 CC03 CC08 GA03 GA06
GA08 GB01 GB06 GB09 GB10

(54)【発明の名称】 多目的プレート

(57)【要約】

【課題】 組織培養、免疫分析に使用できるプレートで形態観察、吸光度測定、蛍光・発酵測定などの多目的に使用できるプレートを提供する。

【解決手段】 肉厚0.5mm以下の透明樹脂からなるプレートと、そのプレートを収めることのできるマルチウェルプレートと同じ形で肉厚1mm以上の透明樹脂もしくは着色樹脂で成形されたホルダー部からなり、透明樹脂プレートの内側に密着するホルダーを透明樹脂プレートを装着することにより透明プレートもしくは着色プレートとして使用できることを特徴とするプレート。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料を収めるための多数のウェルを持つマルチウェルプレートであって、肉厚み 0.5 mm 以下の透明なプレートと、そのプレートを収めることのできる肉厚み 1 mm 以上のホルダーからなる多目的プレート。

【請求項 2】 ホルダーがプレートと同じ形状であり、プレートの下側に密着する請求項 1 記載の多目的プレート。

【請求項 3】 ホルダーが透明樹脂からなり、光学顕微鏡観察、吸光度測定が可能な透明プレートとして使用できる請求項 1 又は 2 記載の多目的プレート。

【請求項 4】 ホルダーが着色樹脂からなり、蛍光測定、発光測定可能な着色プレートとして使用できる請求項 1 又は 2 記載の多目的プレート。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、バイオテクノロジー分野で多用される細胞培養、免疫分析などに用いられるプラスチック製で独立した多数のウェルからなるディスプレイのマルチウェルプレートに関するものである。

【0002】

【従来の技術】本発明が対象とする容器は一般にマルチウェルプレートと呼ばれ、細胞培養、組織培養、細菌培養、蛋白質や DNA、RNA 固定による免疫分析等の分野で汎用されている。このマルチウェルプレートはプレート当たりのウェルの数が決まっており、6、12、24、48、96、384 ウェルが主流である。こうしたプレートは 1 枚のプレートで多数の検体を同時に扱えるため多量の検体を扱う必要のある創薬スクリーニング、HTS 等で多量に使用される。日本では 96 ウェルプレートが主流である。

【0003】しかし、この 96 ウェルプレートを用いる場合には、細胞培養には細胞培養用の表面処理や滅菌が必要であり、また、免疫分析では、蛋白質固定用の表面処理が必要となってくる。一般的には細胞培養用の表面処理には、プラズマ処理、コロナ処理、細胞接着因子のコーティング等の方法がある。また免疫分析のための蛋白質固定用の表面処理としては表面酸化処理による水酸基の導入、特開昭 60-260857 号公報に開示されたカルボキシル基の導入、特開昭 60-15560 号公報に開示されるアミノ基の導入、さらには親水ゲルの塗布による非接着化等必要に応じて種々の表面処理がなされている。また、上記以外でも、検出の方法として蛍光や発光測定法を使用する場合には、特開平 3-40818 号公報に開示されるように隣のウェルに光が漏れないようにプレート自体を白や黒に着色したものが用いられている。そのためこうしたプレートを製造するメーカーにおいては、透明プレート、白色プレート、黒色プレ

ート等、各々のプレートに先に述べた細胞培養用処理や、蛋白質固定化用の表面処理を施しているのが現状である。

【0004】また、こうしたマルチウェルプレートは通常ポリスチレン製の射出成形品を用いる場合が多く、例えばマルチウェルプレート上の培養細胞の電子顕微鏡サンプルを作製しようとする場合や、ラジオアイソトープを用いた実験でマルチウェルプレート上に付着している細胞や蛋白質を放射線ラベルしその放出放射線を測定しようとする場合は、ウェル底面部を切り取る必要がありこの作業はプレートの肉厚と樹脂の硬さのため非常に作業性が悪い。そのために、必要に応じて異なる基材、例えば樹脂シートをカットして、シャーレやプレートの中に入れた物や、培養面をナイロンメンブレンシートで覆ったもの等を用いて細胞培養や蛋白質固定を行っているのが現実である。こうした基材が変わる場合、本当に細胞培養状態や蛋白質の固定状態が、各々の基材上で同じであるという保証は無かった。厳密には、同じベース樹脂を用いても着色のための顔料を入れることにより、表面に顔料が析出し成型品の表面特性が元の樹脂の場合と異なる事は充分考えられ、それ故各々の基材上の細胞状態や蛋白質の固定状態が同じであるという保証は得られない状況であった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、組織培養、免疫分析に使用できるプレートで形態観察、吸光度測定、蛍光・発酵測定などの多目的に使用できるプレートを提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者は、測定手段ごとに異なる基材を必要として、その基材による細胞状態や蛋白質の固定状態の差が各々の測定において測定結果に影響を及ぼす無くすることを目的として検討を加え本発明に到ったものである。すなわち本発明は、試料を収めるための多数のウェルを持つマルチウェルプレートであって、肉厚み 0.5 mm 以下の透明なプレートと、そのプレートを収めることのできる肉厚み 1 mm 以上のホルダーからなる多目的プレートである。さらにホルダーがプレートと同じ形状であり、プレートの下側に密着し、ホルダーが透明樹脂からなる場合は光学顕微鏡観察、吸光度測定が可能な透明プレートとして使用でき、ホルダーが着色樹脂からなる場合は、蛍光測定、発光測定可能な着色プレートとして使用できる多目的プレートである。

【0007】

【発明の実施の形態】本発明は透明樹脂でプレートを成形し、さらにそのプレートにあうホルダーを透明又は着色樹脂で成形し、図 1 に示すようにその二つを組み合わせることで各種用途に対応できる 1 枚のプレートとして機能できる多目的プレートである。プレートは先に記載

したような種々の表面処理を実施することができる。一方、ホルダーは透明以外に、白色または黒色等に着色する事により各種測定装置にあったホルダーを作成することができる。また、ホルダーは、プレートと同じ形状であり、プレートの下側全体に密着するものと、プレートの外枠と同じ形状であり、外枠部分にだけ密着して強度を与えるものの2種類があり、必要に応じて使い分けをする。プレートの肉厚みを0.5mm以下にするのは、プレートのウェル容量を変えずにプレートの肉厚を薄くすることでホルダーのウェルを収める孔を図2のように独立した形状にするためである。このようにすることで、着色樹脂からなるホルダーを使用する場合に、従来の着色樹脂で成形したプレートと同様に蛍光や発光の隣のウェルへの光の横漏れを防ぐことができる。また、プレートの肉厚を薄くすることによりプレート加温時の熱伝導が良くなり、プレート内が均一に加熱される効果もある。

【0008】肉厚みの薄プレートを作成する方法は、透明樹脂シートの真空成形圧空成形が適している。例えば、塩化ビニル樹脂や、ポリエチレンテレフタレート等のシートを真空成形することで透明なプレートを得ることができる。また、プレートの成型方法はこれに限るものではなく、ポリスチレン樹脂を用いた射出成形を用いても成形が可能である。これに対しホルダーは強度を持たせる必要があり、肉厚みを1mm以上と厚くするため真空圧空成形ではなく射出成形や、樹脂ブロックからの削りだし等の方法が好ましい。また、ホルダーは実質的には樹脂製にこだわるものではなく、金属等も使用できるが、プレートの形状とそれに対する密着を考えると加工性の優れた樹脂製ホルダーが好ましい。

【0009】吸光度測定などの透過光測定の系ではプレート本体だけで充分使用できるが、プレートが肉薄であるため手で持った時に変形してしまうことや、ロボットを用いたアクセスシステムなどでロボットアームでのプレートのホールドが安定しないなど、プレートが柔らかすぎるために生じる不具合があるが、肉厚のホルダーを組み合わせることでプレートに強度を持たせることが可能となりこうした問題は解決する。さらにホルダーの形状は、その目的とするところにより異なる形状となる。例えば、細胞を培養する場合は、プレートの透明性は形態の観察が重要な作業になるため、ホルダーはプレート全体に密着する物でなく、ウェル底面部分が開放された形状や(図3(a))プレートに強度を与えるための枠部分だけのホルダー(図3(b))で充分である。またウェル内の物質を蛍光や発光を利用して測定する場合には、従来技術にも述べたように隣のウェルに光が漏れないようにホルダーはウェル全体をカバーし(図3

(c))、なおかつ着色樹脂で成形すれば、測定時に問題となる光の横漏れを防ぐことが可能となる。

【0010】こうしてホルダーを工夫することにより、

測定部であるプレートで、一旦培養したい細胞や固定化したい蛋白質に合う表面処理のプレートを選択すれば、吸光度測定、蛍光測定、または発光測定を同一の細胞培養条件または固定化蛋白条件のサンプルで実施することができる。さらにプレート本体は肉厚みが0.5mm以下と薄くしてあるので、必要に応じて一般的な鉋やナイフでウェル底面部分を切り抜くことが可能で、電子顕微鏡サンプルの調製や、ラジオアイソトープを用いた測定が可能となる。以上のように、これまではそれぞれの測定法に必要な特性を持つ基材上で個々に行ってきた細胞培養や蛋白質の固定を、同一基材からなる同一形状の容器上で実施でき、そして同じ状態の細胞や固定蛋白を用いて、吸光度測定、発光・蛍光測定さらにはラジオアイソトープ測定や電子顕微鏡試料調製が可能となる。以下に実施例を挙げて詳細に説明する。

【0011】

【実施例1】(実施例1) プレート部は金型をまず作製し0.5mm厚の塩ビシートを真空成形し96ウェルマルチウェルプレート1を作製した。滅菌はエチレンオキサイドガス法を用いた。ヒト肝癌細胞株、He p G 2細胞をフラスコ(スミロンMS-)内で、ウシ胎児血清(FBS)10%を含むダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)で培養。細胞がフラスコ培養面にコンプレントになる直前にトリプシン-EDTAで細胞を剥がし回収した。回収した細胞は10%FBS含有DMEMに分散させ、 1×10^4 細胞/mLの濃度とした。調製した細胞分散液を実施例1、2のプレートに1ウェル当たり100 μ L(細胞数: 1×10^3 細胞/ウェル)分注し24時間、37 $^{\circ}$ C、5%炭酸ガス濃度のインキュベーターにて培養した。培地を除去し、新しい10%FBS含有DMEMを100 μ L入れ、さらに生細胞計測のためのWST-1試薬(同人化学製)を10 μ L入れ、37 $^{\circ}$ Cで2時間インキュベート。そのまま、溶液の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

【0012】(比較例1) 実施例1と同じ操作を、市販の細胞培養用96ウェルプレート(住友ベークライト製、MS-8096F)で行った。

(実施例2) 実施例1と同じプレートを準備し、抗ヒトCRP抗体溶液(タウンズ社製)を100 μ L入れ冷蔵庫中に一晩静置し固相化した。固相化液を除去した後0.1%Tween 20を含むリン酸緩衝液300 μ L/ウェルで3回洗浄。次に3%スキムミルクを含むリン酸緩衝液を300 μ L入れ、4時間室温で放置しブロッキングした。前述と同様の方法で各ウェルを洗浄した後、抗原を含むヒト標準血清溶液(タウンズ社製)を100 μ Lを入れ、室温で1時間放置した。放置後、洗浄した。次にペルオキシダーゼ標識の抗ヒトCRP抗体溶液(タウンズ社製)を加え、室温1時間放置した。放置後洗浄、ペルオキシダーゼ発色キット(住友ベークライト製、ML-1130T)の基質液を100 μ L加え1

5

5分間、暗所にて反応させた。15分後2Nの硫酸100 μ Lを加え反応停止し吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

【0013】（比較例2）実施例2と同じ操作を、市販のELISA用96ウェルプレート（住友ベークライト製、MS-8496F）を用いて行った。

（実施例3）実施例2のペルオキシダーゼ発色キットを使用する直前まで同じ操作を行った。ペルオキシダーゼ発色キットに代えて、化学発光ELISA試薬（ペーリンガー・マンハイム社、No. 1582・950）の溶液を100 μ L加え5分後、白色ポリスチレン樹脂で成形したホルダーをプレートにセットして、発光測定用マイクロプレートリーダーで発光量を測定した。

（比較例3）実施例3と同じ操作を、市販の白色96ウェルプレート（住友ベークライト製、MS-8496W）を用いて行った。以上実施例1～3と比較例1～3の結果を表1及び2に示す。

【0014】

【表1】

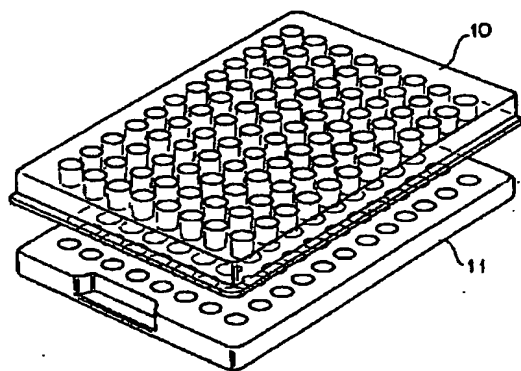
	平均吸光度	変動係数
実施例1	1.081	1.4%
比較例1	0.544	1.9%
実施例2	1.091	3.1%
比較例2	1.126	3.6%

【0015】

【表2】

	平均発光量	変動係数
実施例3	575598	11.3%
比較例3	627497	9.7%

【図1】



6

【0016】以上のように実施例と比較例で差は見られるものの、測定結果そのものは充分使用に耐えうる数値が得られており、本発明のプレート1種類で3つの実験ができることを示している。これは、今まで3種類のプレートを準備することが必要であったものが、1種類のプレートだけで実施可能になったことを示す。また、実施例3で用いたホルダーは直接細胞が接着したり、蛋白質が吸着するものではないので、何度も繰り返して使用することができる利点もある。

10 【0017】

【発明の効果】本発明のプレート及びフレームを用いることにより、細胞培養や蛋白質の吸着反応において測定方法が、吸光度測定、蛍光測定、化学発光測定、RI測定、電子顕微鏡観察などでそれぞれに適した異なるプレートを使用する必要が無く、一種類のプレートで同じ条件の細胞培養又は蛋白吸着させたサンプルでの実験が可能となった。

【図面の簡単な説明】

【図1】多目的プレート形状を示す斜視図である。

20 【図2】プレートの断面図である。

【図3】（a）はプレートの底面が開口しているホルダー密着時の断面図であり、（b）はフレーム部分のみに密着するホルダーの斜視図であり、さらに（c）はプレートに着色樹脂からなるホルダーを密着した時の断面図である。

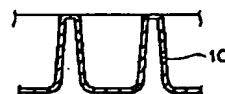
【符号の簡単な説明】

10 プレート

11 ホルダー

12 ホルダー、ウェル底面開口部

【図2】



【図 3】

